Untersuchungen

über die

Wirkung des Phosphors

nebst

Bemerkungen über die Bildung der Peptone in den Organen.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doctorwürde

der medicinischen Facultät zu Rostock

vorgelegt

von

August Kluge,

pract. Arzt,

aus Strohkirchen.

Rostock.

Universitäts-Buchdruckerei von Adler's Erben.

1890.

Die vorliegende Arbeit wurde mit der Absicht begonnen, über das Wesen der Phosphorvergiftung nähere Aufklärungen zu suchen.

Es könnte für einen Anfänger gewagt erscheinen, sich auf ein Gebiet zu begeben, welches schon so vielfach und zwar auch von vorzüglichen Forschern bearbeitet worden ist; aber immer von Neuem kommen Untersuchungen über die Wirkung des Phosphors, welche beweisen, dass noch zahlreiche Unklarheiten vorhanden und noch manche Schwierigkeiten bei der Aufhellung derselben zu überwinden sind.

So ist in erster Linie viel darüber gestritten, und der Streit dauert noch fort, ob der Phosphor als solcher oder eine Verbindung desselben die bekannten deletären Wirkungen in den Organismen hervorruft.

Es sind, um mit den letzteren zu beginnen, als das Wirksame angesprochen worden die Verbindungen des Phosphors mit Wasserstoff und andererseits mit Sauerstoff.

Was zunächst den Phosphorwasserstoff angeht, so trat namentlich Dybkowsky[1]) dafür ein, dass ihm vor allen die giftige Wirkung zukomme. Dybkowky's Behauptungen zu widerlegen und seine Versuche als nicht beweiskräftig gelten zu

---

[1]) Dybkowsky. Beitrag zur Theorie der Phosphorvergiftungen, in F. Hoppe-Seyler's med. chemischen Untersuchungen. Tübingen 1866. S. 59.

lassen, hat sich u. A. J. Neumann[1]) in dem Institut für Pharmakologie und physiologische Chemie zu Rostock zur Aufgabe gemacht, ist jedoch, um es hier gleich zu erwähnen, nicht zu einem bestimmten Resultat gekommen, sondern lässt die Entscheidung darüber offen, was bei der Phosphorvergiftung eigentlich giftig wirke.

Der Phosphorsäure dagegen gaben Munk und Leyden[2]) für die Vergiftungserscheinungen Schuld. Die genannten Forscher kamen zu dieser Ansicht auf Grund einiger Untersuchungen über die Elementarwirkungen des Phosphors, über die bis dahin nur wenige Beobachtungen gemacht waren und, wie hier gleich gesagt sein mag, auch weiterhin nicht mehr gemacht sind. Sie konnten nämlich bei dem Zusammenbringen einer Eiweiss- und Zuckerlösung mit einem Stückchen Phosphor in einem Reagensglase und bei Erwärmen der Mischung keine Veränderung wahrnehmen. Ebensowenig gelang ihnen dieses bei Zusammenbringen von Phosphor und Blut. Phosphorsäure dagegen bewirkte gleich ein lackfarbenes Aussehen des Blutes und zeigte unter dem Mikroskope eine schnelle Zerstörung der rothen Blutkörperchen. Dass sich Phosphorwasserstoff bei der Phosphorvergiftung bilde, hielten diese beiden Forscher für höchst unwahrscheinlich. Die Anschauung von Munk und Leyden hat, da die Uebertragung der Versuche im Reagensrohr auf den thierischen Organismus schon allein wegen des unrichtigen Mengenverhältnisses der Säure zu den Geweben Bedenken erregen musste, keinen Eingang gefunden. Dass auch die anderen Säuren des

[1]) J. Neumann. Experimentelle Studien zur Phosphorvergiftung. Inaug.-Dissert. Rostock 1886.

[2]) Munk und Leyden. Die akute Phosphorvergiftung. Berlin. 1885.

Phosphors, insbesondere die phosphorige, die unterphosphorige Säure, sowie die Metaphosphorsäure auch in grösseren Mengen als Salze eingeführt den Organismus nicht schädigen und somit bei der Erklärung der Phosphorvergiftung bedeutungslos sind, ist in der oben erwähnten Dissertation von J. Neumann auseinander gesetzt worden. Es fallen somit die Phosphorverbindungen überhaupt fort, immer und immer wieder wird man zu dem Phosphor selbst zurückgeführt. Ich glaube mit Recht spricht man ihn selbst als das Wirksame bei der Vergiftung an. Diese Ansicht theilen auch viele der Autoren. Gegen dieselbe geltend gemacht ist zunächst die sogenannte Unlöslichkeit des Phosphors in den Körperflüssigkeiten. Mit Absicht sage ich die „sogenannte" Unlöslichkeit, denn der Phosphor ist löslich, wenn auch nur in sehr geringem Grade in wässrigen Flüssigkeiten. Finden wir Phosphor in der Leber und anderen Organen, so kann er nur in gelöstem Zustande in jene gelangt sein. Der oben erwähnte, so oft gemachte Einwand ist also sicher hinfällig. Weiter hat man dann gegen die Ansicht, der Phosphor selbst sei das Wirksame, die negativen Versuche von Munk und Leyden anführen zu können geglaubt. Es fragt sich jedoch, ob bei diesen Versuchen überhaupt die Bedingungen erfüllt waren, wie sie bei der Wirkung des Phosphors im thierischen Organismus gegeben sind; hierüber unten mehr.

Andererseits giebt es aber auch positive Versuche über die Elementarwirkungen des Phosphors. Die einschlägigste Arbeit hierüber ist wohl die von Hans Meyer.[1])

---

[1]) Hans Meyer. Ueber die Wirkung des Phosphors auf den thierischen Organismus. Archiv für experimentelle Pathologie und Pharmakologie, Band XIV. Seite 313. 1881.

Meyer kommt bei seinen Versuchen zu dem Resultat, dass durch die Wirkung des Phosphors der mittlere Blutdruck bei Säugethieren langsam aber stetig herabgesetzt wird und stellt nun im Anschluss an das von Fränkel[1]) erlangte Resultat, dass überall da, wo die Bedingungen für eine ungenügende Sauerstoffzufuhr zu den Geweben gegeben sind, die Eiweisszersetzung im thierischen Organismus eine Steigerung erfahre, die Hypothese auf, dass bei Phosphorvergiftung die Beeinträchtigung der Circulation die vermehrte Eiweisszersetzung vielleicht erklären könne. Diesem Erklärungsversuch gegenüber möchte ich doch auf die Beobachtungen von J. Neumann über das Verhalten des in die Blutbahn gebrachten amorphen Phosphors hinweisen. Es fand sich hierbei Verfettung der Leber, und zwar in Herden, in deren Mitte meist ein grösseres oder mehrere kleine Stückchen Phosphor zu erkennen waren.

Bei lebenden Fröschen sowohl als auch an ausgeschnittenen Froschherzen hat Meyer vermittelst Durchströmungsversuche erwiesen, dass bei Phosphorvergiftung das Herz in Diastole still steht. Es soll sich hier um eine Lähmung der automatischen Nervencentren im Herzen handeln.

Anknüpfend an die hier nur in ihren Hauptergebnissen wiedergegebenen Versuche von Hans Meyer liess ich es mir angelegen sein, den Einfluss des Phosphors auf die Muskelsubstanz und zwar auf die Erregbarkeit der Muskeln zu untersuchen. Es wurden dazu Froschmuskeln in physiologischer Kochsalzlösung mit Phosphor zusammengebracht

---

[1]) Fränkel. Ueber den Einfluss der verminderten Sauerstoffzufuhr zu den Geweben auf den Eiweisszerfall im Thierkörper. Virchow's Archiv, Band 67. S. 273.

und zur Controle, inwiefern die sich aus dem Phosphor bildende Säure mitwirke, zu zwei der aufgestellten Gefässe eine Messerspitze kohlensaurer Kalk zugesetzt.

Es wurden im Ganzen vier Gläser angesetzt, die in folgender Weise gefüllt waren:

1. 0,6 % Kochsalzlösung,
2. Kochsalz und Phosphor,
3. Kochsalz und kohlensaurer Kalk,
4. Kochsalz und kohlensaurer Kalk und Phosphor.

In je zwei Gläser wurden gleichbenannte Muskel von den beiden hinteren Extremitäten eines Frosches, ganz gleichmässig präparirt unter Vermeidung jeder Quetschung und Verletzung an den Ansatzstellen, sowie unter gleichmässiger Entfernung der Perimysiums, gebracht und von Zeit zu Zeit herausgenommen und mit dem Inductionsstrom auf ihre electrische Erregbarkeit geprüft. Es ist dies die von O. Nasse[1]) s. Z. benutzte Methode, das Verhalten der Froschmuskeln in Salzlösungen zu studiren.

Die Resultate der sechs von mir angestellten Versuche sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Die unter einem Winkel gezeichneten Striche deuten an, in welcher der mit einander verglichenen Lösungen die Erregbarkeit des abgekürzt bezeichneten Muskels länger erhalten blieb. Parallele Striche gaben an, dass kein Unterschied in dem Absterben beobachtet wurde — vielleicht weil zu lange Pausen in der Prüfung auf Erregbarkeit gemacht worden waren.

---

[1]) O. Nasse. Beiträge zur Physiologie der contractilen Substanz. Pflüger's Archiv für Physiologie II. S. 97. 1869.

Die Abkürzungen bedeuten:

a. = adductor.
b. = biceps.
g. = gastroenemius.
s. = semimembranosus.
sa. = sartorius.
qu. = quadriceps.

		I.	II.	III.	IV.	V.	VI.
1.	NaCl.					a.	g. b.
	NaCl+P.					∨	∨ ‖
2.	NaCl+$CaCO_3$.	s. qu.				b. sa.	g. sa. a.
	NaCl+$CaCO_3$+P.	∨ ∨				‖ ∨	∨ ∨ ∨
3.	NaCl.	b.	b.			s.	
	NaCl+$CaCO_3$.	∧	∧			∧	
4.	NaCl+P.	a.	s.	g.	sa.	g.	
	NaCl+$CaCO_3$+P.	‖	∧	∧	∧	∧	

Aus den Versuchen der Reihe 1 ist mit Sicherheit der Schluss zu ziehen, dass bei Gegenwart von Phosphor die Froschmuskeln rascher ihre Erregbarkeit einbüssen als ohne Phosphor, und weiter aus Reihe 2 auch, dass der Phosphor wahrscheinlich als solcher wirkt und nicht etwa durch die Bildung einer Säure. Denn alle Säure wird bei den Versuchen dieser Reihe neutralisirt.

Wie verderblich die Säuren, auch die in dem Muskel selbst entstehende Säure, wirken, zeigt die 3. und 4. Reihe: Bei Bindung dieser Säure durch kohlensauren Kalk bleibt die Erregbarkeit stets länger erhalten.

Diese die Erregbarkeit herabsetzende Wirkung der im Muskel selbst gebildeten Säure ist längst bekannt; es sei hier nur an die Thatsache erinnert, dass bei einem durch Tetanisiren oder durch Strychninkrämpfe ermüdeten und so gut wie uner-

regbar gewordenen Muskel durch Auswaschen desselben durch Injection von physiologischer Kochsalzlösung in die Gefässe die Erregbarkeit wieder hergestellt wird und andererseits die Strychninkrämpfe wiederkehren.

Auch mit Flimmerepithel und zwar von der Gaumenschleimhaut des Frosches habe ich Versuche angestellt: Von zwei gleich grossen und gleich vorsichtig von correspondirenden Stellen abpräparirten Stücken wurde das eine in 0,6 % Kochsalzlösung, das andere in eine Kochsalzlösung plus Phosphor gebracht. In dem ersten Versuch konnte ein Unterschied in den Lebenserscheinungen nicht festgestellt werden, aber in dem zweiten Versuche war noch am dritten Tage an der Gaumenschleimhaut, die in der Kochsalzlösung allein gelegen hatte, unter dem Mikroskope deutliches Flimmern sichtbar, während die in die Lösung von Kochsalz plus Phosphor gelegte kein Flimmern mehr zeigte.

Also auch hier wieder bei dem Absterben des Flimmerepithels zeigte der Phosphor dieselbe schädliche Wirkung wie bei dem Absterben der Muskeln.

Versuche mit Amöben, die anzustellen ich beabsichtigt hatte, mussten schliesslich unterbleiben, weil ich Amöben aus dem mir zur Verfügung stehenden Wasser nicht in genügender Menge erhalten konnte. Von derartigen Versuchen an niederen Organismen ist aber ohne Zweifel noch Manches zu erwarten. Man könnte hierbei vielleicht durch das Mikroskop Aufschluss darüber erlangen, wie das Leben der Zelle durch die Einwirkung des Phosphors alterirt wird. Nicht minder scheint es wünschenswerth, dass die Wirkung von Phosphor auf Pflanzen, sei es im Keimstadium, sei es im entwickelten Stadium einem näheren Studium unterzogen werden. Es ist möglich, dass Beobachtungen nach dieser Richtung bereits

vorliegen; in dem hier in Rede stehenden Sinne sind dieselben aber wohl nicht verwendet worden.

Zwei Versuche, die Wirkung des Phosphors auf die ausgeschnittenen Herzen zweier gleich grossen Frösche zu beobachten, misslangen. Die Herzen contrahirten sich sowohl in der Kochsalzlösung allein als auch in dem mit Phosphorstückchen versehenen Gefässe schon anfangs sehr unregelmässig und reagirten beide nach fünf Stunden selbst auf den stärksten Induktionsstrom nicht mehr. Von weiteren Versuchen dieser Art wurde von mir abgesehen, da dieselben nur der eigenen Belehrung wegen unternommen waren. Genauere Versuche sind, wie oben bereits angeführt wurde, von Hans Meyer mit dem Durchströmungsapparat angestellt und beschrieben worden.

Kann man nun vielleicht sagen, dass der Phosphor ein Protoplasmagift sei, wobei nicht ausgeschlossen ist, dass das Protoplasma in manchen Organen aus uns nicht bekannten Gründen eine grössere Empfindlichkeit, in anderen umgekehrt ein grösseres Widerstandsvermögen besitzt, so wäre nun weiter zu untersuchen, ob es das Eiweiss selbst ist, welches afficirt wird, (um abnorme Zersetzungen des Eiweisses handelt es sich ja mit, aber wohl nicht ausschliesslich um dieselben) oder die noch zum guten Theil hypothetischen fermentartigen Kräfte des Protoplasma, welche die Eiweisszersetzung und überhaupt alle stofflichen Veränderungen in deren Anfängen veranlassen. Es ist wohl von vornherein mehr als unwahrscheinlich, dass das Eiweiss selbst durch den Phosphor verändert wird, und es bedurfte wohl kaum noch der oben erwähnten Versuche von Munk und Leyden, um eine solche Annahme zurückzuweisen. Wir schliessen eben nicht mit Munk und Leyden, dass es der Phosphor

als solcher, d. h. der unveränderte Phosphor nicht sei, welcher wirkt, sondern wir folgern, dass es die Eiweisskörper nicht sind, auf welche eine Wirkung ausgeübt wird. An dieser Stelle der Ueberlegungen angekommen, welche anknüpfen an eine von O. Nasse[1]) bereits vor längerer Zeit angestellte Betrachtung, lag es nahe, auch die Verdauungsfermente mit in den Kreis der Untersuchung zu ziehen, — was dieser Theil der Arbeit ergeben hat, sei zunächst mitgetheilt.

Versuche darüber, ob die Thätigkeit von löslichen Fermenten (Enzymen) sich bei Gegenwart von Phosphor in irgend einer Weise ändert, sind auf Veranlassung von Herrn Professor Nasse schon von J. Neumann[2]) von dem Ferment der Hefe, dem Invertin, beschrieben worden. Dass J. Neumann nur negative Resultate erhalten hatte, war zunächst bedeutungslos, da, wenn auch Invertin unempfindlich war, doch andere Enzyme und insbesondere die eiweisszersetzenden durch Phosphor beeinflusst werden konnten. Ist doch zuerst durch die Untersuchungen von O. Nasse[3]) und dann verschiedene andere diesen folgende Arbeiten die wichtige Thatsache nachgewiesen, dass die verschiedenen Enzyme in ihrer Thätigkeit durch fremde Moleküle in ganz verschiedener Weise beeinflusst werden.

Das zu allen Versuchen benutzte Eiweiss war Hühnereiweiss in geronnenem Zustande. Dasselbe war auf folgende Weise gewonnen: Das Weisse von Hühnereiern wurde zunächst mit einer scharfen Scheere zerschnitten, dann in einer Flasche tüchtig

---

[1]) O. Nasse. Zur Anatomie und Physiologie der quergestreiften Muskelsubstanz. Leipzig 1882. S. 98.

[2]) a. a. O. S. 25.

[3]) O. Nasse. Untersuchungen über die ungeformten Fermente. Pflüger's Archiv für Physiologie. XI. S. 138. 1875.

geschüttelt, um mit dem entstehenden Schaume die Häute und Stücke von Eierschalen zu entfernen, dann colirt und mit sehr viel Wasser auf dem Dampfbade erhitzt. Unter Umrühren und tropfenweisem Zusatze von verdünnter Essigsäure, bis die Masse schwach sauer reagirte, liess man das Eiweiss gerinnen. Dann wurde das Ganze colirt, das Eiweiss auf dem Tuche noch gründlich gewaschen, schliesslich etwas abgepresst und noch feucht mit Zusatz von Chloroform aufbewahrt.

Zunächst machte ich Versuche mit dem Fermente des Pankreas, dem Trypsin. Dasselbe war nach einer von Herrn Professor Nasse schon seit Jahren angewandten und in der Dissertation von Grisson[1]) kurz erwähnten Methode dargestellt, ausgehend von der Thatsache, dass Fermente mit Benzoesäure zur Trockne gebracht und von dieser durch Aether wieder befreit, noch wirksam sind. So war also Pankreas vom Hunde mit Benzoesäure über Schwefelsäure im Exsiccator getrocknet, mit Aether ausgezogen, fein pulverisirt und bei Anwesenheit von Chloroform mit Wasser behandelt. Das Filtrat bildete den bei allen nachfolgenden Versuchen benutzten „Auszug".

Versuch I (Trypsin).

In vier Becherkolben, die mit A, B, C und D bezeichnet wurden, kamen je 25 gr Eiweiss, 150 ccm destillirtes Wasser und, um den ganzen Inhalt alkalisch zu machen, von einer Lösung von kohlensaurem Natrium so viel, dass die ganze Masse eine $^1/_2$ % Lösung davon darstellte. Um die Mitwirkung niederer Organismen auszuschliessen, erhielt jeder

[1]) H. Grisson. Ueber das Verhalten der Glycoside im Thierkörper. Inaug.-Dissert. Rostock 1887. Seite 112.

Becherkolben 5 ccm Chloroform. Dann wurden 15 ccm des eben beschriebenen Auszuges aus Hundepankreas hinzugefügt. Zu den Gefässen A und B kam dann noch je ein Stückchen Phosphor. Die vier Gefässe wurden nun in Zimmertemperatur aufgestellt.

In den ersten Tagen schien bei A und B eine Hemmung in der Verdauung zu bestehen, die jedoch so gering war, dass sie nicht mit Sicherheit nachgewiesen werden konnte. Am fünften Tage war die Einwirkung des Trypsin in allen vier Becherkolben eine gleiche zu nennen.

Bei diesen Versuchen war zweifellos ein doppelter Fehler begangen. Es war offenbar zu viel Pankreas genommen, da die Verdauung zu schnell vor sich ging und ferner waren die Stückchen Phosphor zu gross, da die Wirkung grösserer Mengen desselben auf die Eiweissverdauung zu studiren nicht in der Absicht lag.

Versuch II (Trypsin).

In sechs Becherkolben A, B, C, D, E, F kamen je 25 gr Eiweiss, 150 ccm destillirtes Wasser, 4 ccm Chloroform und so viel kohlensaures Natrium, dass der ganze Inhalt eines jeden Gefässes eine 2 % Lösung desselben darstellte. Von dem Auszuge des Hundepankreas, der diesmal nicht so concentrirt genommen war, wie bei Versuch I, kamen zu jedem Becherkolben 5 ccm. Zu A, B, C und D wurde dann je ein Stückchen Phosphor gegeben und zwar der Art, dass A nur ein sehr minimales Stück erhielt und dann gleichmässig ansteigend B, C, D je ein grösseres. Der Versuch wurde wieder bei Zimmertemperatur gemacht. Die Gefässe wurden täglich mehrere Male geschüttelt.

Am dritten Tage war noch in keinem der sechs Becherkolben eine Veränderung zu bemerken. Es

wurden zu jedem noch 5 ccm. Pankreaslösung hinzugesetzt.

Am vierten Tage zeigte sich ebenfalls noch keine Veränderung. Abermaliger Zusatz von 5 ccm Pankreaslösung.

Am fünften Tage schien mir die Zersetzung des Eiweisses in D etwas weiter vorgeschritten zu sein als in den übrigen.

Am siebenten Tage war jedoch kein Unterschied mehr bemerkbar, ebensowenig am neunten Tage. Es wurden je 10 ccm Pankreaslösung hinzugesetzt.

Von jetzt an ging die Zersetzung in den sechs Becherkolben gleichmässig vor sich, so dass der Versuch nach einigen Tagen beendigt wurde. —

Weitere Versuche wurden nun mit dem Verdauungsfermente des Magensaftes, dem Pepsin, angestellt. Eine Lösung davon wurde dadurch gewonnen, dass von einem Schweinemagen die oberste Schicht der Schleimhaut abgeschabt, mit verdünnter Salzsäure längere Zeit geschüttelt und dann filtrirt wurde.

Versuch III (Pepsin).

Sechs Becherkolben A, B, C, D, E und F wurden mit je 25 gr Eiweiss, 115 ccm destillirtes Wasser, 4 ccm Choroform und 10 ccm der erwähnten Pepsinlösung beschickt. Zu A, B, C und D kam dann je ein Stückchen Phosphor und zwar zu A das grösste, dann gleichmässig absteigend zu D das kleinste. Schliesslich erhielt jedes Gefäss noch 10 ccm stark verdünnter Salzsäure. Die Beobachtungen wurden wieder bei Zimmertemperatur gemacht.

Am dritten Tage war die Verdauung in C am weitesten vorgeschritten, dann folgten nacheinander A, D, B; E und F waren unter einander gleich und am weitesten zurückgeblieben.

Am sechsten Tage prävalirte wieder C; dann kam jedoch nur mit wenig Unterschied A, dann folgte D. Am weitesten zurück waren B, E und F, die unter einander gleich waren.

Der Versuch wurde nun als beendigt betrachtet. Die Verschiedenheit in der Zersetzung des Eiweisses konnte durch zwei Punkte bedingt sein. Entweder war die Verdauung durch den Phosphor selbst oder durch die Bildung von Säure schneller vor sich gegangen.

Jedoch sehen wir von weiteren Erwägungen ab und betrachten erst die Resultate der folgenden Versuche.

Versuch IV (Pepsin).

Sechs Becherkolben mit der Bezeichnung I bis VI wurden mit je 25 gr Eiweiss, 130 ccm destillirtes Wasser, 4 ccm Chloroform, 10 ccm stark verdünnter Salzsäure und 10 ccm Pepsinlösung gefüllt. Zu I bis IV kamen dann in derselben Reihenfolge zunehmend kleine Stückchen Phosphor.

Die Beobachtungen geschahen bei Zimmertemperatur. Die Gefässe wurden mehrere Male des Tages geschüttelt.

Am dritten Tage zeigte sich keine Veränderung. Zusatz von noch 5 ccm Pepsinlösung.

Die Zersetzung des Eiweisses ging jetzt in allen sechs Gefässen gleichmässig von Statten.

Am vierzehnten Tage war VI am klarsten. Jedoch kann dieser Umstand keine Beachtung verdienen, da die sechs Gefässe in einer Reihe so aufgestellt waren, dass VI dem Ofen am nächsten stand.

Der Versuch wurde jetzt abgebrochen.

Versuch V (Pepsin).

Sechs Becherkolben wurden mit je 25 gr Eiweiss, gleichen Mengen destillirten Wassers, 10 ccm stark

verdünnter Salzsäure und 5 ccm Pepsinlösung versehen. Zu vier derselben kamen dann noch kleine Stückchen Phosphor von wechselnder Grösse. Die sechs Gefässe wurden in Zimmertemperatur aufgestellt.

Die Beobachtung ergab keine Unterschiede in der vor sich gehenden Zersetzung des Eiweisses.

In den bis dahin beschriebenen Versuchen hatte ich mich damit begnügt, festzustellen, ob sichtbare Unterschiede in der Menge des unverdauten Eiweisses zu Tage traten; hatte ich doch gehofft, Unterschiede der Art zu finden, dass in dem einen Gefäss das Eiweiss noch so gut wie gar nicht angegriffen, im anderen aber schon gelöst wäre.

Von solchen grossen Unterschieden ist aber, wie die Experimente gelehrt haben, gar keine Rede; geringere Unterschiede mussten mir bei der Methode entgehen, — daher wurde nun eine andere angewendet. Das gebildete Pepton sollte, wenn auch nur zunächst wieder ganz annähernd, bestimmt werden mittelst der Biuretprobe.

Von colorimetrischen Bestimmungen ist oft nicht viel gehalten worden; das ist richtig, sobald es sich um absolute Bestimmungen handelt. Wenn aber bloss verglichen werden soll unter übrigens ganz gleichen Verhältnissen der zu untersuchenden Flüssigkeiten oder Organtheile (hierüber das Nähere unten), so genügt sie vollkommen. Besondere Beobachtungsreihen, in welchen ich mir dem Grade der Verdünnung nach unbekannte Mischungen miteinander verglich, haben mir das gezeigt.

Sämmtliche von mir angestellte Peptonproben wurden auf folgende Weise gemacht.

Zunächst werden, um die Eiweisskörper einschliesslich der Hemialbuminose zu entfernen, in jedes Gefäss, nach der Versuchsordnung alle mit gleichen Mengen gefüllt, gleiche Mengen von Chlornatrium gegeben und zwar im Voraus berechnet so viel, dass noch etwas ungelöst bleibt, dann ebenfalls gleiche Mengen von Essigsäure. Die nun gut zu verschliessenden Gefässe bleiben dann unter öfterem Umschütteln noch einige Zeit stehen, damit man einer gleichmässigen Vertheilung der gelösten Stoffe sicher sein kann.

Gleiche Mengen der Filtrate, natürlich vermittelst trockener Filter gewonnen, werden in Reagensgläschen von möglichst übereinstimmendem Durchmesser gebracht, mit gleichen Mengen von Natronlauge versetzt, und nun tropfenweise, aber bei allen Gefässen immer gleich viel, Kupfersulfat in sehr verdünnter Lösung hinzugethan. Damit das zunächst sich ausscheidende Kupferoxydhydrat sich besser löst, kann unbeschadet für die Reaction vorher etwas Ammoniak zugesetzt werden.[1]) Dass man bei dem Zusatz von Kupfersulfat sehr vorsichtig sein muss, damit nicht die blaue Farbe die rothviolette des Peptons verdeckt, versteht sich von selbst.

Versuch VI (Trypsin).

Sechs Becherkolben wurden wie in den früheren Versuchen mit gleichen Mengen Eiweiss, destillirten Wassers, Pankreaslösung, Chloroform und kohlen-

[1]) Aus der während des Niederschreibens dieser Arbeit erscheinenden Nr. 24 des chem. Centralblattes (1890. I. S. 1031) ersehe ich, dass J. Gnesda ebenfalls bei der Biuretprobe neben dem Kali oder Natron Ammoniak anwendet und die Anwendung aus dort ausführlich angegebenen Gründen warm empfiehlt. Auch alkalisches und ammoniakalisches Nickelsulfat wird zum Nachweis von Pepton als tauglich angegeben.

saurem Natrium gefüllt. Zu vier derselben kamen dann noch wechselnde Mengen von Phosphor. Die Beobachtungen geschahen wieder bei Zimmertemperatur.

Nach neun Tagen waren in den sechs Gefässen keine sichtbaren Unterschiede zu bemerken. Dieselben wurden nun in der beschriebenen Weise mit Chlornatrium und Essigsäure versetzt.

Nach einigen Tagen wurde dann die Peptonprobe vorgenommen, die in allen Gefässen gleiche Mengen von Pepton ergab.

Gegen diesen Versuch liesse sich der Einwand erheben, dass derselbe zu lange gedauert habe, und die von uns als möglich betrachtete Beschleunigung der Peptonbildung durch den Phosphor wieder eingeholt sei. Jedoch sprechen gegen diesen Einwand wieder meine anderen Versuche.

Versuch VII (Trypsin).

Am 30. Januar d. Js. wurden vier Becherkolben mit gleichen Mengen Eiweiss, destillirten Wassers, des „Auszuges" aus dem Hundepankreas und Chloroform angesetzt.

Von kohlensaurem Natrium kam dann zu jedem Gefäss soviel, dass der ganze Inhalt eine $^1/_2$ % Lösung davon darstellte. Die Becherkolben wurden mit A, B, C und D bezeichnet. A und C erhielten schliesslich jedes noch ein kleines Stückchen Phosphor. Um den Einfluss des Chloroforms zu beobachten, wurden zwei Becherkolben, E und F, mit Weglassung des Chloroforms genau ebenso wie die erwähnten vier gefüllt und auch zu einem derselben, E, ein Stückchen Phosphor hinzugesetzt. Alle sechs Gefässe wurden in einen Digestionsapparat gestellt und mit Ausnahme der Nächte bei 40 ° C. digerirt.

Am 4. Februar war ein Unterschied bei Vergleichung der Gefässe noch nicht bemerkbar; es wurden deshalb zu jedem noch 5 ccm des Pankreasauszuges hinzugetzt.

Am 5. Februar wurden A (mit Phosphor) und B (ohne Phosphor) herausgenommen. In beiden war, soweit es einfache Beobachtung erkennen liess, die Verdauung gleichmässig vor sich gegangen. Nun zeigte sich weiter, dass auch die Peptonreaction an Stärke vollkommen gleich war.

Bei E und F war trotz des Mangels an Chloroform jetzt noch kein Fäulnissgeruch bemerkbar.

Am 8. Februar war bei den noch übrigen vier Gefässen insofern ein Unterschied bemerkbar, als E und F faulig rochen und auch heller erschienen als C und D. Die Peptone scheinen also durch die Fäulnissproducte zerstört zu werden. C und D waren unter einander gleich. Die Peptonreaction war bei allen vier dieselbe.

Es hat sich hiernach bei den Verdauungsfermenten ebensowenig wie bei den Versuchen von J. Neumann mit Invertin und Rohrzucker eine Veränderung in ihrer Thätigkeit bei Gegenwart von Phosphor constatiren lassen.

Auf Grund von negativen Resultaten mit Bestimmtheit Behauptungen zu formuliren, ist besonders schwierig. Es können hier immer viele Einwände gemacht werden, zunächst schon die Versuchsbedingungen bekrittelt werden. Auf die letzteren muss daher noch ganz besonders geachtet werden. Dass indessen negative Resultate für die Wissenschaft nicht werthlos sind, im Gegentheil vielleicht oft mehr Werth haben als unbedeutende positive, ist wohl nicht zu bestreiten.

Ich denke auch nicht, dass mir zum Vorwurf gemacht werden könnte, dass die Versuche in Folge

falscher Voraussetzungen gemacht wurden. Jedoch überlasse ich dieses dem Urtheile der Leser und hoffe, dass die vorliegende Arbeit zu Gunsten der Nothwendigkeit der gemachten Versuche spricht. —

Gehen wir nun zu den Versuchen mit Organfermenten über, die offenbar durch den negativen Ausgang der Versuche mit Trypsin und Pepsin ebensowenig von vornherein als unnöthig anzusehen waren, als die letzteren, nachdem das Invertin sich dem Phosphor gegenüber unempfindlich gezeigt hatte.

Die Vorgänge in den Organen oder, allgemein gesagt, im Protoplasma sind schon vielfach und in sehr früher Zeit mit Fermentvorgängen verglichen worden, freilich auch oft in unklarer Weise. Nur die Anfänge der Zersetzungen können den durch die sogenannten Enzyme bewirkten an die Seite gestellt werden. Ich verweise in dieser Beziehung auf verschiedene Abhandlungen von O. Nasse,[1]) in denen diese Verhältnisse besprochen worden sind.

Mag man nun auch über die Bedeutung der Thätigkeit dieser Organfermente verschiedener Ansicht sein, an ihrem Vorhandensein ist nicht zu zweifeln. Zwei in dem Leben vorkommende Zersetzungen: Die Umwandlung des Glykogens in Traubenzucker und die Bildung von Säure sind neuerdings von O. Nasse mit Sicherheit im postvitalen Zustande von Leber und Muskeln (bei Tödtung des Protoplasma und gleichzeitiger Vernichtung aller die Untersuchung

[1]) a. d. o. a. O. und ferner:

Fettzersetzung und Fettanhäufung im thierischen Körper. Biologisches Centralblatt. VI. S. 235. 1886.

Ueber die Synthesen im thierischen Organismus. Sitzungsbericht der naturforschenden Gesellschaft zu Rostock. Sitzung vom 25. October 1884.

störenden, niederen Organismen durch ein und denselben Stoff, nämlich Chloroform) nachgewiesen worden.[1]) Die Isolirung der betreffenden Fermente ist freilich noch nicht gelungen, aber man hat wässrige Auszüge der Organe benutzen können, in denen auch die schärfste Kritik nicht mehr von Protoplasma sprechen kann. Die Organfermente unterscheiden sich nachweisbar durchaus nicht von den Verdauungsfermenten, den Enzymen aus keimenden Samen u. s. w. Es sind vielleicht sogar die letzteren, unter welchen die diastatischen am meisten studirt worden sind, längst bekannte, nur nicht als solche bezeichnete Organ- oder Protoplasmafermente. Neuere Untersuchungen, auf welche mich Herr Professor Nasse während des Niederschreibens aufmerksam machte, erregen übrigens Zweifel an der Richtigkeit der zuletzt erwähnten Auffassung. Es soll nämlich die Eiweisszellenschicht des Weizenkornes als ein drüsiges Organ und somit die Diastase als ein einfaches Drüsensecret anzusehen sein.[2])

Für uns handelt es sich wegen der Einwirkung des Phosphors auf die Eiweisszersetzung in erster, wenn nicht in einziger Linie um Organfermente, welche Eiweiss zersetzen; mit anderen Worten: die Eiweisszersetzung ist in den Organen, deren Protoplasma getödtet ist, und die vor niederen Organismen geschützt sind, zu verfolgen. Es lag der Plan vor, die Eiweisszersetzung zu messen an der Peptonbildung. Ist doch auch gerade das Auftreten von

---

[1]) O. Nasse. Sitzungsbericht der naturforschenden Gesellschaft zu Rostock. Sitzung vom 23. Februar 1889.

[2]) Das Nähere hierüber ist nachzusehen bei G. Haberlandt. Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft. VIII. S. 40. 1890, im Auszuge in der Naturwissenschaftlichen Rundschau 1890. S. 298.

Pepton in den Auscheidungen (Harn) constant bei Phosphorvergiftung. Dass aber überhaupt bei dem Zerfall von Eiweiss in den Organen Peptonbildung die erste Stufe des Zerfalles ist, darf doch wohl als sehr wahrscheinlich angenommen werden, seitdem man auch als erste Stufe der Fettzersetzung in den Organen die Spaltung der Fette in Fettsäuren und Glycerin gefunden hat. Findet man freilich auch in Leber und Muskeln, den beiden von mir untersuchten Organen, direct aus dem Thier genommen, kein Pepton, so war doch einerseits dieses Fehlen vielleicht so zu erklären, dass die Peptonstufe bei dem Zerfall des Eiweisses zu rasch durchschritten wird, andererseits hat man aber in der Leber wenigstens bei Phosphorvergiftung Pepton gefunden.

Schon Fischel[1]) hatte versucht in den Organen der durch Phosphor vergifteten Kaninchen und Hunde Pepton nachzuweisen, doch war ihm dieses nicht in allen Fällen gelungen. Dann hatte er weiter auch von demselben Gesichtspunkt ausgehend Peptonuntersuchungen bei der Involution des puerperalen Uterus angestellt. Er legte sich die Frage vor, wodurch die schon in den ersten Tagen nach der Entbindung stattfindende erhebliche Verkleinerung des Uterus bedingt sei, ob bereits um diese Zeit des Wochenbettes die an Eiweisssubstanzen reiche Masse der Gebärmutter zu schwinden beginne. Dieser Schwund wäre nach seiner Annahme unter anderem denkbar durch Ueberführung des Muskeleiweisses in eine lösliche Modification, als welche nur das Pepton in Betracht komme. Fischel kommt nach seinen Untersuchungen trotz mehrerer negativer Resultate zu dem Schluss, dass der

[1]) Fischel. Ueber puerperale Peptonurie. Archiv für Gynäkologie XXIV. S. 27. 1884.

puerperale Uterus in seinem Myometrium Pepton enthält.

Gegen diese Deduction liesse sich einwenden, dass das überflüssige feste oder unlösliche Muskeleiweiss des Uterus doch nicht nothwendig in Pepton umgewandelt zu werden braucht, sondern in lösliches Eiweiss, das „circulirende Eiweiss" Voit's, das dann fortgeführt wird. Es ist also nur möglich, nicht durchaus nothwendig, dass Pepton gebildet wird.

Auch sind Fischel's Uterusuntersuchungen nicht ganz einwandsfrei, weil bei den Untersuchungen I bis VII der Uterus nicht vollkommen frisch war. Bei VIII, wo der Uterus ganz frisch war, findet sich kein Pepton. Immerhin ist die Bildung von Pepton jedoch wahrscheinlich. Pag. 420 sagt Fischel dann „wie es im Uterus sich bildet, darüber weiss ich nichts anzugeben". Der Gedanke, dass Pepton sich regelmässig bei der Zersetzung von Eiweisskörpern bilden muss, ist Fischel nicht gekommen.

Auch Miura[1]) hat in seiner Arbeit Pepton gerade bei Phosphorvergiftung nachzuweisen gesucht, und auch wirklich 0,14 bis 0,76 % Pepton (bezogen auf das Gewicht des frischen Organs) bei Kaninchen, 0,21 % Pepton bei einem Hund in der Leber gefunden. Ueber das wiederholt constatirte Vorkommen von Pepton in den Organen der an Puerperalfieber Gestorbenen giebt er selbst die Möglichkeit zu, dass dieses von der Mitwirkung niederer Organismen abhängen könne.

Die von mir an mit Phosphor vergifteten Kaninchen angestellten Peptonuntersuchungen seien zunächst in Folgendem beschrieben.

---

[1]) Miura. Ueber pathologischen Peptongehalt der Organe. Virchow's Archiv. 101. S. 316. 1885.

I.

Ein Kaninchen erhielt am 5. Februar 1,4 gr einer $^1/_2$ % Phosphoröllösung in Kapseln. Am 10. Februar abermals 1,4 gr. Am 13. Februar starb das Kaninchen ungefähr $^1/_2$ Minute nach der Verabreichung der Kapsel mit 0,7 gr Phosphoröl augenscheinlich an Erstickung. Die Section ergab nichts Pathologisches. Dem Magen entströmten beim Aufschneiden Phosphordämpfe. Die Hälfte der Leber wurde mit 5 ccm Chloroform zusammen in einem kleinen Becherkolben in Zimmertemperatur aufgestellt. Die andere Hälfte wurde sofort gekocht, mit Chlornatrium und Essigsäure behandelt und auf Pepton untersucht. Peptonreaction trat nicht ein. Die Untersuchung der mit Chloroform angesetzten Leber am 25. Februar ergab gleichfalls kein Pepton.

II.

Am 5. Februar wurde mit der Fütterung eines Kaninchens mit $^1/_2$ % Phosphoröllösung in Kapseln begonnen. Dasselbe erhielt jeden 2. Tag 1 gr und starb am 20. Februar Abends, nachdem es im Ganzen 8,0 gr der Lösung erhalten hatte. Unter dem Mikroskope zeigten Leber, Herz und Nieren fettige Degeneration. Die Skelettmuskeln dagegen schienen ganz normal zu sein.

Pepton war in den Organen nicht nachzuweisen.

An diese Phosphorversuche sei noch eine zufällige Beobachtung geschlossen, bei der es sich übrigens nicht um Phosphorwirkung handelte.

Ein Kaninchen, das vor längerer Zeit geworfen hatte, war plötzlich gestorben. Auf der Aussenfläche des Uterus fand sich eitriger Belag; andere Todesursache war bei der Section nicht nachzuweisen. Der Uterus zeigte sich frei von Pepton. Auch das

Filtrat der Leber ergab bei der gewöhnlichen Behandlung keine Peptonreaction.

Die beiden zuerst angeführten Versuche haben gelehrt, dass man sehr häufig auch bei Phosphorvergiftung in den Organen Pepton nicht findet; durch diese Befunde werden die positiven von Miura in ihrem Werth nicht herabgesetzt, aber sie haben im Verein mit der letzten Beobachtung an dem crepirten Kaninchen doch eine Bedeutung, nämlich die, dass Pepton nicht regelmässiger Bestandtheil der Leber ist.

Ehe ich diese Vergiftungsversuche anstellte, hatte ich sehr oft Muskel, Leber und andere Organe auf Pepton untersucht. Die Gelegenheit dazu verdankte ich Herrn Professor Nasse, der mir das von ihm vor längerer Zeit allerdings zu einem anderen Zwecke angesetzte Material, sämmtlich entweder ganz frisch aus dem Schlachthause bezogen oder im Institut getödteten Thieren entnommen, überliess. Die Resultate dieser Untersuchungen sind folgende:

I.

Hammelleber, angesetzt 2. August 1888 mit destillirtem Wasser und Chloroform. Geöffnet 31. Januar 1890. Auf dem Boden des Gefässes noch Chloroform, der Leberbrei riecht aber nicht mehr nach Chloroform, von fauliger ammonikalischer Zersetzung ist indess nichts zu bemerken.

Filtrat: Pepton.

II.

Hundeleber vom 15. November 1888, angesetzt mit Wasser und Chloroform. Geöffnet 31. Januar 1890. Riecht nicht verdorben.

Filtrat: Kein Pepton.

III.

Hundeniere, Februar 1889 mit Wasser und Chloroform angesetzt. Geöffnet 31. Januar 1890. Riecht noch nach Chloroform.

Filtrat: Kein Pepton.

IV.

Hammelleber vom 14. Mai 1889, angesetzt mit Wasser, Chloroform und kohlensaurem Kalk. Geöffnet 31. Januar 1890. Riecht schwach nach Chloroform. Im Filtrat: Kein Pepton. Ist nach Zusatz der Reagentien blaugrün, hat sich jedoch nach einer Stunde wieder entfärbt.

Nach Entfernung des Kalks aus dem Filtrat bleibt dasselbe nach Zusatz des Kupfers blau.

V.

Katzenleber, 15. Mai 1889 angesetzt mit Wasser, Chloroform und kohlensaurem Kalk. Geöffnet 31. Januar 1890. Riecht nach Chloroform.

Filtrat: Frei von Pepton.

VI.

Katzenmuskel, 15. Mai 1889 angesetzt mit Wasser, Chloroform und kohlensaurem Kalk. Geöffnet 31. Januar 1890. Riecht nach Chloroform.

Filtrat wie gewöhnlich behandelt, färbt sich hellblau. Nach Entfernen des Kalkes tritt schwache Peptonreaction auf.

VII.

Hundeniere, 21. Mai 1889 angesetzt mit Wasser, Chloroform und kohlensaurem Kalk. 31. Januar 1890 geöffnet. Riecht faulig.

Das Filtrat giebt nach Entfernen des Kalkes keine Peptonreaction.

VIII.

Hammelleber, 21. Juni 1889 angesetzt mit Wasser, Chloroform und kohlensaurem Kalk. Geöffnet 31. Januar 1890. Auf dem Boden des Gefässes befindet sich noch Chloroform. Die obere Masse riecht aber nicht mehr nach Chloroform, sondern hat einen faden Geruch.

Filtrat: Peptongehalt zweifelhaft. Nach Entfernen des Kalkes ebenso.

Bei II und IV war, wie ich nachträglich noch hervorheben möchte, auch kein Pepton nachzuweisen, nachdem der Inhalt gekocht war und dann die Peptonprobe in der früheren Weise angestellt wurde.

Ich stehe nicht an, den Schluss aus den vorstehend mitgetheilten Beobachtungen zu ziehen, dass in Leber, Muskel und Nieren, deren Protoplasma getödtet ist, deren fermentartige Kräfte aber noch erhalten sind (Beweis dafür: die Umwandlung des Glycogens in Traubenzucker), Pepton nicht gebildet wird, wenn man nicht etwa den Einwand erheben will, das im ersten Stadium der Eiweisszersetzung gebildete Pepton sei rasch weiter zerfallen. Gegen solchen Einwand lässt sich anführen, dass bei Verdauung von Eiweiss und Trypsin Pepton niemals vermisst wird. Das Vorkommen von Pepton in einigen Gefässen (I und VI) kann nicht von entscheidender Bedeutung sein, da dieses so vereinzelt dastehende positive Ergebniss durch andere Umstände hervorgerufen sein kann und zwar in erster, wenn nicht in einziger Linie durch Einwirkung niederer Organismen.

Gerade vor letzteren hat man sich bei Peptonuntersuchungen ganz besonders in Acht zu nehmen und mit Recht müssen die Angaben über Anwesenheit von Pepton in früheren, nicht aseptischen Ver-

suchen stark angezweifelt werden. Aber auch bei Zusatz von Chloroform hat man Vorsicht anzuwenden. Erstens darf dasselbe natürlich nicht ganz verdunsten; aber weiter hat man auch bei Verhütung des Verdunstens darauf zu achten, dass alle Theile mit Chloroform durchtränkt sind. Ist die Masse der zerkleinerten Gewebe sehr dick, so können besonders bei öfterem Oeffnen des Gefässes die oberen Theile frei von Chloroform werden und so auch faulen, trotzdem am Boden des Gefässes noch grössere Mengen von Chloroform vorhanden sind. Durch öfteres Umschütteln oder sogar Umrühren des Gewebebreies wird man diesem Uebelstande zu begegnen suchen müssen.

Mit den eben mitgetheilten Beobachtungen habe ich bereits das oben eingehend besprochene Gebiet der Untersuchungen von Organfermenten betreten, lasse nunmehr die Beschreibung meiner neuen Versuche folgen und zwar zunächst die Darstellung der Versuche, in welchen in der Leber bei Anwesenheit von Chloroform der Einfluss von Phosphor studirt worden ist. Die Peptonuntersuchungen wurden natürlich in der Seite 17 angeführten Weise unternommen. Ob etwa die Anwesenheit von Zucker bei den Leberuntersuchungen für die Peptonreaction störend sei, wurde von mir auf folgende Weise festgestellt.

In zwei Reagensgläser von gleicher Grösse wurden gleiche Mengen einer schwachen Peptonlösung gebracht und zu der einen noch eine gute Messerspitze voll Traubenzucker hinzugefügt. Die Reaction war für den ersten Moment in beiden Gläsern dieselbe. Eine Gelbfärbung in der mit Zucker versetzten Peptonlösung trat erst nach ungefähr einer Minute auf. Bei genügend schneller Beobachtung konnte also etwa vorhandener Zucker für die Peptonuntersuchungen nicht hinderlich sein.

Versuch VIII.

Am 4. December 1889 wurden acht Becherkolben mit gleichen Mengen frischer und fein zerhackter Hammelleber angesetzt. Zu jedem Gefäss kamen dann 4 ccm Chloroform und gleiche Mengen destillirten Wassers. Zwei Becherkolben blieben ohne weiteren Zusatz, die übrigen sechs wurden mit kleinen Stückchen Phosphor von verschiedener Grösse versehen. Die Gefässe wurden — gut verschlossen — in Zimmertemperatur aufgestellt und mehrere Male des Tages geschüttelt. Am 12. December wurde, nachdem zu jedem Becherkolben 50 gr Chlornatrium und 4 ccm Essigsäure hinzugesetzt waren, die Peptonprobe vorgenommen. Dieselbe ergab bei allen acht ein negatives Resultat.

Versuch IX.

Am 22. Januar 1890 wurden acht Becherkolben mit gleichen Mengen frischer und fein zerhackter Hammelleber und ebenfalls gleichen Mengen destillirten Wassers angesetzt.

Zu jedem Gefässe kamen dann 5 ccm Chloroform. I und II blieben ohne weiteren Zusatz, III und IV erhielten je ein Stückchen Phosphor, V und VI ein Stückchen Phosphor nebst einer geringen Menge von kohlensaurem Kalk, VII und VIII dieselbe Menge kohlensauren Kalkes, aber keinen Phosphor. Der Zusatz von kohlensaurem Kalk wurde gemacht, um die mit der starken Säurebildung in der Leber (vergl. die Mittheilung von O. Nasse) verbundene Ausfällung von Eiweiss und Fermenten zu verhindern. Sämmtliche acht Becherkolben wurden darauf der Digestion bei 40° C. unterworfen. I, III, V, VII wurden nach fünfstündigem Digeriren herausgenommen, I und III mit derselben Menge von

kohlensaurem Kalk versetzt, wie V und VII solchen von Anfang erhalten, dann alle 4 Gefässe mit 30 gr Kochsalz und 4 ccm Eisessig (zur Neutralisirung des Kalkes weit mehr als genügend) versetzt und tüchtig geschüttelt. II, IV, VI, VIII wurden noch 24 Stunden digerirt und dann ebenso wie die vier ersten behandelt. Bis zum 28. Januar blieben noch alle acht Gefässe in Zimmertemperatur stehen, schienen dann aber schon in Fäulniss überzugehen.

Das Filtrat aller acht war gelb gefärbt. I, III, V und VII filtrirten trübe, was mit der Anwesenheit von Glycogen zu erklären ist. Bei dem Zusatz von Natronlauge und Kupfersulfat nahmen sie eine gelbgrüne Färbung an, von der Mischung des Blau mit dem Gelb herrührend, violetter Ton war gar nicht zu bemerken. Es war also kein Pepton vorhanden.

Auch bei II, IV, VI, VIII fiel die Peptonprobe negativ aus. Dagegen nahmen II und VIII bei dem Zusatz des Kupfersulfats überraschender Weise eine hellrothe, dem Morgenroth ähnliche Farbe an, die beim Stehen nachdunkelte, und zwar wurde II gleich roth, während VIII diese Farbe erst nach einiger Zeit annahm.

Weiteres über diese Reaction werde ich nach Beschreibung anderer Versuche unten berichten.

Versuch X.

Acht Becherkolben, die mit den Buchstaben A bis H bezeichnet wurden, wurden mit je 50 gr Leber eines neugeborenen Kalbes, 100 ccm destillirten Wassers und mit Ausnahme von A und B mit je 4 ccm Chloroform gefüllt. B, D, F, H erhielten noch jeder ein kleines Stückchen Phosphor.

Sämmtliche acht Gefässe wurden nun in einen Digestionsapparat gestellt und mit Ausnahme der Nächte bei 40 ° C. digerirt.

Am nächsten Tage schon wurde bei C und D die Peptonprobe vorgenommen, die bei beiden negativ ausfiel.

Am zweiten Tage nahm ich A und B heraus, die beide bereits zu faulen begannen und schon einen schwachen Geruch nach Schwefelwasserstoff erkennen liessen. Nach dem Zusatz von Chlornatrium und Essigsäure filtrirte B trüber durch als A, was wohl durch grösseren Glycogengehalt zu erklären ist. Die Peptonprobe gab bei beiden ein negatives Resultat. Jedoch zeigten beide wieder eine schwach hellrothe Farbe, die bei A mit der Zeit etwas dunkler wurde. Dies Dunklerwerden ist vielleicht durch einen stärkeren Grad von Fäulniss zu erklären, da ja auch anscheinend in A weniger Glycogen war als in B.

Zu den noch übrigen vier Becherkolben wurden am sechsten Tage noch je 4 ccm Chloroform nachgefüllt, da das vorher zugesetzte schon zum grössten Theile verdunstet war.

Am achten Tage wurde mit E und F die Peptonreaction gemacht, die jedoch wiederum negativ ausfiel. Die am zwölften Tage mit G und H vorgenommene Peptonprobe liess es zweifelhaft, ob in H vielleicht geringe Spuren von Pepton zugegen waren.

Eine Rothfärbung war bei den letzten vier Proben in keinem Falle aufgetreten. Es war aber auch nicht, wie bei den Versuchen, wo diese Reaction eingetreten war, eine Fäulniss bemerkbar, sondern alle hatten noch einen ziemlich intensiven Chloroformgeruch.

Wird somit in der Leber durch deren Fermente nicht Pepton gebildet, auch nicht bei Gegenwart von Phosphor, so war eine solche Bildung doch vielleicht in den Muskeln möglich bei Gegenwart von Phosphor. Dass ohne denselben die Muskelfermente Pepton

nicht zu bilden vermögen, war oben schon gezeigt. Die von mir mit Muskelsubstanz angestellten Versuche sind folgende:

Versuch XI.

Vier Becherkolben a, b, c, d wurden mit je 20 gr fein zerkleinerter Muskeln aus dem Rücken eines Kaninchens, 50 gr destillirten Wassers und 4 ccm Chloroform angesetzt. c und d erhielten noch jedes ein kleines Stückchen Phosphor. Alle vier Gefässe wurden mit Ausnahme der Nächte im Ganzen 24 Stunden lang bei 40° C. digerirt und blieben dann noch 3 Tage in Zimmertemperatur stehen. Nach dieser Zeit war das Chloroform verflüchtigt, aber bei keinem ein Zeichen von Fäulniss bemerkbar.

Bei der Peptonprobe färbte sich a roth, b blau, c und d gaben beide eine rothe Farbe.

Pepton war also nicht nachweisbar.

Versuch XII.

Von vier Becherkolben, mit 1, 2, 3 und 4 bezeichnet, wurden 1 und 2 mit gleichen Mengen fein zerkleinerter Muskeln vom Ochsen, destillirten Wassers und Chloroform versehen. Nachdem 2 dann noch mit einem Stückchen Phosphor beschickt war, wurden beide Gefässe in Zimmertemperatur aufgestellt und mehrere Male des Tages geschüttelt. 3 und 4 wurden in gleicher Weise gefüllt und zwar erhielt hier 4 das Stückchen Phosphor. Bis zum nächsten Tage standen diese beiden gleichfalls in Zimmertemperatur und wurden dann mit Ausnahme der Nächte längere Zeit ebenfalls bei 40° C. digerirt.

Am zehnten Tage wurde mit 1 und 2 die Peptonprobe vorgenommen. Beide schienen verdorben zu sein. 1 zeigte eine stärkere Violettfärbung als 2.

Dieses nahm jedoch später dieselbe Farbe an, die dann nach einiger Zeit in roth überging.

Mit 3 und 4 wurde nach neun Tagen die Reaction auf Pepton gemacht. 3 war verdorben und mit einer Schicht überzogen, die unter dem Mikroskope Bacterien erkennen liess. Es gab eine deutliche Peptonreaction; jedoch verschwand nach kurzer Zeit die violette Farbe und ging in roth über. 4 war nicht verdorben und ergab keine Spur von Pepton und auch keine Rothfärbung.

Ueber diesen bei der Peptonreaction aufgetretenen rothen Farbstoff sind von mir folgende weitere Beobachtungen gemacht:

Zunächst scheint derselbe nur da aufzutreten, wo ein gewisser Grad von Fäulniss besteht, wie es ja in den eben beschriebenen Versuchen in allen Fällen, wo die Rothfärbung auftrat, der Fall war. Bei einem zu starken Fäulnissgrade, wo schon Schwefelwasserstoffgährung eingetreten war, habe ich den rothen Farbstoff nie zu Gesicht bekommen. Mit stark gefaulten Pansen und Froschmuskeln waren Versuche von mir hierüber angestellt. Auch die Gegenwart von Chloroform scheint keinen Einfluss auf diese Reaction zu haben, wie folgender Versuch ergiebt:

Am 31. Januar 1890 wurden zwei Gefässe mit Ochsenfleisch angesetzt. Das eine A blieb ohne jeglichen Zusatz, zu dem anderen B kamen 5 ccm Chloroform. Beide Gefässe wurden in Zimmertemperatur aufgestellt, mit einer Glasplatte bedeckt, häufiger mit einem Glasstabe umgerührt und dem Faulen überlassen.

Am 4. Februar wurde aus A, das schon faulig roch, eine Probe entnommen und nach der oben beschriebenen Weise die Peptonprobe gemacht. Eine

Violettfärbung ergab sich nicht; dagegen trat nach längerem Stehen von ungefähr 3 Stunden die blassrothe, dem Morgenroth ähnliche Farbe auf. Zum Unterschied von den früheren Versuchen dunkelte dieselbe nicht nach, sondern blieb wie sie war, erschien vielleicht noch etwas heller als die bei den früheren Reactionen aufgetretene.

5. Februar bei A dieselbe Reaction.

10. Februar. A hat einen widerlichen, stark fauligen Geruch. Kein Pepton, keine Rothfärbung. B riecht etwas faulig. Geruch von Chloroform nicht mehr bemerkbar. Kein Pepton. Bleibt zuerst blau, giebt nach längerer Zeit aber eine schwach hellrothe Färbung.

11. Februar. A riecht nach Schwefelwasserstoff. Kein Pepton. Keine Rothfärbung. B riecht wie gestern. Pepton. Nach einiger Zeit tritt der rothe Farbstoff auf.

19. Februar. Die Fäulniss in B ist fortgeschritten. Riecht aber nicht nach Schwefelwasserstoff. Pepton. Keine Rothfärbung.

Man ersieht also hieraus, dass sowohl bei Zusatz von Chloroform als auch ohne denselben die rothe Farbe auftritt. Ferner lässt sich aus dem Versuche folgern, dass, wenn ein bestimmter Grad von Fäulniss überschritten ist, die Reaction nicht mehr eintritt.

Auf der anderen Seite muss aber auch, wie, wenn auch nicht aus diesen, so doch aus früheren Versuchen ersichtlich ist, erst eine bestimmte Grenze der Fäulniss erreicht sein, damit die rothe Farbe auftritt.

Ein ähnlicher Versuch, wie den eben beschriebenen, der auf dieselbe Weise mit Eiweiss angestellt war, gelang nicht, da das Eiweiss nicht faulte, sondern schimmelte und auch die Rothfärbung nicht auftrat.

Aus den weiteren Beobachtungen dieses räthselhaften rothen Farbstoffes kann ich noch mittheilen, dass

derselbe sowohl bei längerem Stehenlassen als auch beim Kochen allmählich braun wird, und dass sich im Reagensglas ein Niederschlag bildet. Bei Verdünnen mit destillirtem Wasser tritt eine Entfärbung oder ein Braungelbwerden ein; diese Zersetzung geht um so rascher vor sich, je mehr Alkali dabei ist. Aether nimmt den Farbstoff nicht auf, weder aus alkalischer noch aus saurer Flüssigkeit. Salzsäure, Salpetersäure und Schwefelsäure verändern die Farbe in braungelb; sie wird dann violett durch Natronlauge. Ein Absorptionsstreifen wurde in Grün beobachtet.

Weitere Untersuchungen über die Natur dieses Farbstoffes sind wohl noch anzustellen. Mir gelang es, wie gesagt, nicht ihn in noch anderen Fällen zu beobachten, und insbesondere konnten nicht die Bedingungen für das Auftreten des die Reaction veranlassenden Körpers so festgestellt werden, dass man denselben willkürlich zu gewinnen im Stande war.

Fassen wir nun zusammen, was die mit Organen (Leber und Muskeln) bei Ausschluss der Protoplasmathätigkeit angestellten Versuche lehren: Peptonbildung hat sich nicht nachweisen lassen, weder bei Abwesenheit noch bei Anwesenheit von Phosphor. Ich möchte noch ein Mal darauf aufmerksam machen unter Hinweis auf die oben pag. 27 mitgetheilten Beobachtungen, wie vorsichtig man bei derartigen Untersuchungen sein muss, wie man bei dem Auftreten von Pepton auf das genaueste prüfen mus, ob nicht doch Bacterien mit im Spiel gewesen sind.

Muss nun aber mit dem negativen Ausfall unserer Experimente auch die Auffassung fallen, dass gerade sowie Glycogen und Fett bei der Einwirkung eines jeden der hier überhaupt in Frage kommenden Agentien stets zunächst in der gleichen Weise zer-

fällt, so auch die Eiweisskörper bei ihrer Zersetzung die Stufe des Peptons durchlaufen müssen? Oder sollte nur die auf die Versuche von O. Nasse mit Muskel- und Leberbrei, versetzt mit Chloroform, sich stützende Annahme: auch für die Eiweisskörper müssten von dem Protoplasma zu trennende Kräfte fermentartiger Natur in den Geweben vorhanden sein, als falsch abgelehnt werden? Nicht ohne Weiteres kann ich mich zu dieser Ablehnung verstehen, halte es vielmehr, ehe eine neue Hypothese über Art und Wesen der Eiweisszersetzung aufgestellt wird, zunächst für wahrscheinlicher, dass die Bedingungen für die Thätigkeit des oder der Eiweissfermente nicht genügend erfüllt sind. Ich habe die Versuche nur dahin verändert, dass ich die sich bildende Säure, welche schädlich wirken konnte, mit kohlensaurem Kalk abstumpfte. Vielleicht ist aber Sauerstoff oder gleichzeitig eine gewisse Menge von Kohlensäure nothwendig zur Wirkung des Fermentes. Fallen freilich alle Versuche negativ aus, so wird man die Bildung von Pepton in den Organen, die an und für sich durch die positiven Angaben von Fischel und Miura erwiesen scheint, der complicirten Thätigkeit des Protoplasmas zuschreiben müssen. Die Ergründung des Vorganges und damit auch die der Einwirkung des Phosphors auf denselben ist dann natürlich sehr erschwert.

Zum Schluss sei es mir gestattet, Herrn Professor Dr. O. Nasse, von welchem die Anregung zu vorstehender im Institut für Pharmakologie und physiologische Chemie ausgeführten Arbeit ausgegangen ist, für stetige Unterstützung mit Rath und That pflichtschuldigst meinen Dank zu sagen.